

B3

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 02-215774

(43)Date of publication of application : 28.08.1990

(51)Int.Cl.

C07D243/24  
A61K 31/55  
A61K 31/55  
A61K 31/55

(21)Application number : 01-336798

(71)Applicant : ROUSSEL UCLAF

(22)Date of filing : 27.12.1989

(72)Inventor : GASC JEAN-CLAUDE  
HUMBERT DANIEL

(30)Priority

Priority number : 88 8817395 Priority date : 29.12.1988 Priority country : FR

(54) NEW 2,4-DIOXO-5-PHENYL-2,3,4,5-TETRAHYDRO-1H-1,5-BENZODIAZEPINE DERIVATIVES, PREPARATION THEREOF, INTERMEDIATES, USE THEREOF AS MEDICINES AND COMPOSITIONS CONTAINING THE MEDICINES

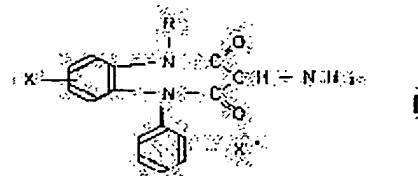
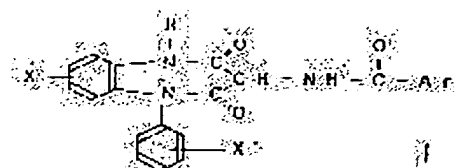
(57)Abstract:

NEW MATERIAL: 2,4-Dioxo-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,5-benzodiazepine derivatives of formula I (wherein X and X' are each H, a halogen, cyano, NO<sub>2</sub> CF<sub>3</sub>, or alkyl or alkoxy having 8 or less carbon atoms; R is H or an alkyl having 8 or less carbon atoms; and Ar is an aryl having 14 or less carbon atoms, an aromatic heterocyclic group or a heterocyclic group bonded to aryl).

EXAMPLE: N-(7-chloro-2, 4-dioxo-1-methyl-5-phenyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-1,5- benzodiazepine-3-yl)-1H-indole-2-carboxamide.

USE: Treatment of some dietary functional disorders, adiposis, behavioral and emotional disorders, schizophrenia, and gastrointestinal disorders.

PROCESS: A compd. of formula II is reacted with a compd. of formula III to obtain a compd. of formula I.



## ⑫ 公開特許公報(A)

平2-215774

⑩ Int. Cl.<sup>3</sup>C 07 D 243/24  
A 61 K 31/55

識別記号

AAN  
ACN

庁内整理番号

6742-4C  
7375-4C

⑬ 公開 平成2年(1990)8月28日

※

審査請求 未請求 請求項の数 14 (全9頁)

⑭ 発明の名称 新規な2, 4-ジオキソ-5-フェニル-2, 3, 4, 5-テトラ  
ヒドロ-1H-1, 5-ベンゾジアゼピン誘導体、その製造方法並  
びに、中間体、その薬物としての用途および該薬物を含有する組成  
物

⑰ 特 願 平1-336798

⑱ 出 願 平1(1989)12月27日

優先権主張

⑳ 1988年12月29日㉑ フランス(FR)㉒ 88-17395

⑲ 発 明 者

ジャンクロード・ガス フランス国ボンデイ、リュ・ジヨルジュ・リサンドル、6  
ク

㉓ 出 願 人

ルセル・ユクラフ フランス国75007パリ、ブルバール・デ・ザンバリッド35

㉔ 代 理 人

弁理士 倉内 基弘 外1名

最終頁に続く

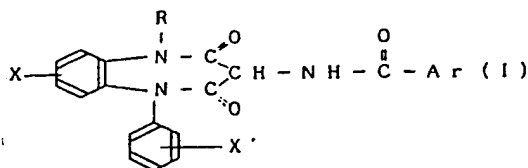
## 明 細 書

## 1. 発明の名称

新規な2, 4-ジオキソ-5-フェニル-2, 3,  
4, 5-テトラヒドロ-1H-1, 5-ベンゾジ  
アゼピン誘導体、その製造方法並びに、  
中間体、その薬物としての用途  
および該薬物を含有する組成物

## 2. 特許請求の範囲

1. 式:



(式中、

-XおよびX'は同じか或は別異にして、水素  
原子、ハロゲン原子、シアノ基、NO<sub>2</sub>基、  
CF<sub>3</sub>基、炭素原子8個までを含有するアルキル  
ないしアルコキシ基を表わし、

-Rは水素原子又は、炭素原子8個までを含有  
するアルキル基を表わし、そして

-Arは炭素原子14個までを含有する随意置  
換されるアリール基、随意置換される芳香族複素  
環式基又は随意置換されるアリール基と結合した  
複素環式基を表わす)

を有するすべての可能な異性体形化合物並びにそ  
れらの混合物。

2. Rが炭素原子4個までを含有するアルキル基  
を表わす、特許請求の範囲第1項記載の式(I)  
の化合物。

3. Rがメチル基を表わす、特許請求の範囲第  
1項記載の式(I)の化合物。

4. X'が水素原子を表わす、特許請求の範囲第  
1項～3項のいずれか一項記載の式(I)の化合  
物。

5. Xが水素原子を表わす、特許請求の範囲第  
1項～4項のいずれか一項記載の式(I)の化合  
物。

6. Xがハロゲン原子を表わす、特許請求の範囲

第1項～5項のいずれか一項記載の式(I)の化合物。

7. Xが7位の塩素原子を被わす、特許請求の範囲第6項記載の式(I)の化合物。

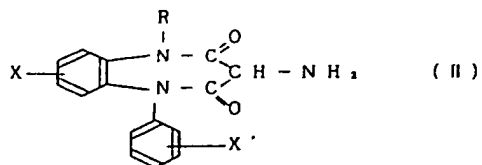
8. N-(7-クロロ-2,4-ジオキソ-1-メチル-5-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-3-イル)-1H-インドール-2-カルボキシアミド又は

N-(2,4-ジオキソ-1-メチル-5-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-(1,5)-ベンゾジアゼピン-3-イル)-1H-インドール-2-カルボキシアミドである、特許請求の範囲第1項記載の式(I)の化合物。

9. 特許請求の範囲第1項～7項のいずれか一項記載の式(I)の化合物よりなる薬物。

10. 特許請求の範囲第8項記載の式(I)の化合物よりなる薬物。

11. 特許請求の範囲第9項又は10項記載の薬物少なくとも1種を有効成分として含有する製薬組成物。



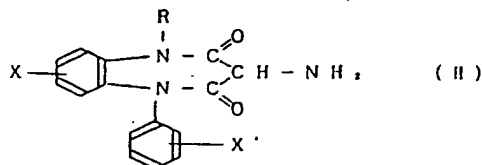
の化合物よりなる新規な化学製品。

14. 3-アミノ-7-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4(3H, 5H)-ジオン又は3-アミノ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4(3H, 5H)-ジオンよりなる、特許請求の範囲第13項記載の新規な化学製品。

### 3. 発明の詳細な説明

本発明は新規な2,4-ジオキソ-5-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-1,5-ベンゾジアゼピン誘導体、その製造方法並びに、中間体、その薬物としての用途および該薬物を含有する組成物に関する。

12. 特許請求の範囲第1項～8項のいずれか一項記載の式(I)の化合物を製造するに際して、式(II)



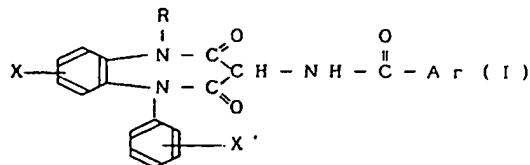
(式中R、XおよびX'は既述の意味を有する)の化合物を式(III)：



(式中Arは既述の意味を有する)の酸ないし酸誘導体の作用に付して対応する式(I)の化合物を得るようにすることを特徴とする方法。

13. 特許請求の範囲第12項に定義される如き式(II)：

本発明の主題は式(I)：



(式中、

-XおよびX'は同じか或は別異にして、水素原子、ハロゲン原子、シアノ基、NO<sub>2</sub>基、CF<sub>3</sub>基、炭素原子8個までを含有するアルキルないしアルコキシ基を表わし、

-Rは水素原子又は炭素原子8個までを含有するアルキル基を表わし、そして

-Arは炭素原子14個までを含有する随意置換されるアリール基、随意置換される芳香族複素環式基又は随意置換されるアリール基と結合した複素環式基を表わす)

を有するすべての可能な異性体形化合物並びにそれらの混合物である。

置換基XおよびX'はフェニル核上任意の位

置に存在しうる。X若しくはX'がハロゲン原子を表わすとき、それは好ましくは塩素ないし臭素原子である。

X若しくはX'がアルキル又はアルコキシ基を表わすとき、それは好ましくはメチル、エチル、メトキシないしエトキシ基を表わす。

Rがアルキル基を表わすとき、それは好ましくはメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピルないしn-ブチル基である。

Arがアリール基を表わすとき、それは好ましくは、例えば塩素原子又は臭素原子の如きハロゲン原子の群から選ばれる置換基1種ないし2種以上により随意置換されるフェニル基、例えばメトキシ若しくはエトキシ基の如き炭素原子4個までを有するアルコキシ基、例えばメチル若しくはエチル基の如き炭素原子8個までを有するアルキル基である。

Arが芳香族複素環式基を表わすとき、それは好ましくはピリジニル、チオフェニル、オキサゾリル又はイソオキサゾリル基である。

胃収縮に対する作用および腸運動能に対する作用によって示される。それは或る場合には動脈圧に作用し得、免疫系に影響しうる。

コレシストキニンはいくつかの中樞神経内にドバミンと共存する。それはまた、アセチルコリン、GABA、セロトニン、オピオイド、ソマトスタチン、P物質およびイオン管を含むメカニズムに介入する。

その投与によって、生理学的変異すなわち眼瞼下垂、低体温症、高血糖症ないしカタレプシーが生じ、また行動修正すなわちハイポロコモトリシティー、診査上の低下、痛覚消失症、学習行動、性行動ないし充足上の修正が生じる。

用量により、それはドバミン性作用薬又は拮抗薬として挙動する。

それ故、式(1)の化合物は、ある種の食事機能障害、肥満症、行動、感情、性ないし記憶面の障害、精神分裂症並びに胃腸領域の種々の障害を治療する際の薬物として用いることができる。

従って、本発明の一つの主題は、式(1)の

Arがフェニル核と結合した複素環式基を表わすとき、それは好ましくはインドリル、ベンゾフラニル若しくはキノリニル核である。

一つの特定された本発明の主題は、式(1)中Rが炭素原子4個までを有する例えばメチル基の如きアルキル基を表わし、X'が水素原子を表わし、Xが水素原子或は、例えば7位の塩素原子の如きハロゲン原子を表わす化合物である。

更に特定するに、本発明の一つの主題は、後記実施例に製造が示されている化合物特に例1および例2の化合物である。

式(1)の化合物は、結合部位が中枢ないし末梢レベルであることが示されているコレシストキニンの作動薬若しくは拮抗薬である。コレシストキニンは脳特に皮質、線条、海馬、下方表面被蓋、中隔および視床下部に広く分布しているペプチドである。

コレシストキニンはまた、小腸により末梢レベルで分泌され、その作用は特に、小腸性収縮の刺激、胆汁分泌の増加、膵臓の酵素分泌の制御、

化合物よりなる薬物特にその製造が後記実施例に示されている化合物取分け例1および例2の化合物よりなる薬物である。

使用化合物および治療すべき障害によって異なる薬量は、例えば経口ルートで大人の場合一日当り0.05~100mg範囲で変動しうる。

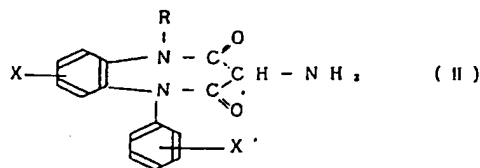
本発明の他の主題は、上記の薬物少なくとも1種を有効成分として含有する製薬組成物である。斯かる組成物は消化ルートないし非経口ルートによって投与されうるように調製される。

それは固体又は液体であり得、今日ヒト薬剤に用いられている製薬形例えばブレンないし糖衣錠剤、カプセル、顆粒、坐薬、注射液で提供され得、而してこれらは通常の方法に従い調製される。

単数ないし複数種の有効成分を、斯かる製薬組成物に通常用いられる賦形剤例えばタルク、アラビアゴム、ラクトース、澱粉、ステアリン酸マグネシウム、カカオ脂、水性若しくは非水性ベヒクル、動物性若しくは植物性脂肪物質、パラフィ

ン誘導体、グリコール、種々の湿潤、分散若しくは乳化剤および防腐剤と一緒に調剤することができる。

本発明の他の主題は、式 (II)



(式中 R、X および X' は既述の意味を有する) の化合物を式 (III) :

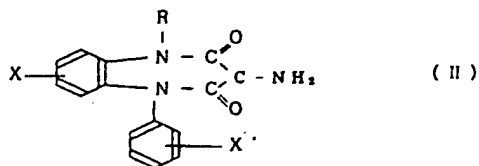


(式中 Ar は既述の意味を有する) の酸ないし酸誘導体の作用に付して対応する式 (I) の化合物を得るようにすることを特徴とする方法である。

本発明方法の好ましい実施態様において、化合物 (III) は酸、酸塩化物又は酸無水物の形で用いられる。

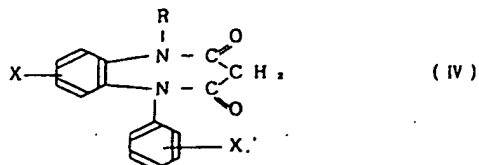
本発明方法の出発物質として用いられる式

ルの如き触媒の存在で水素の如き還元剤の作用に付し或は  $\text{LiAlH}_4$ 、又は酢酸中の亜鉛ないしエタノール中のナトリウムの如き別の還元剤の作用に付して、対応する式 (II) :



の化合物を得るようにすることを特徴とする方法に従って調製することができる。

式 (II) の分割化合物を調製することが所望されるとき、式 (IV) :

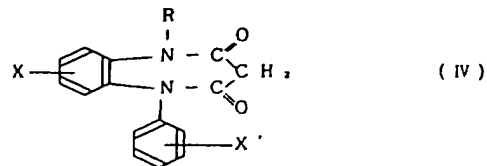


の化合物をハロゲン化剤の作用に付して式 (V') :

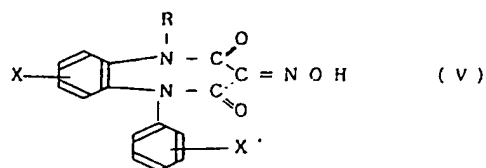
(II) の化合物は新規な化合物であり、それ自体本発明の別の主題である。

本発明の一つの特定された主題は、製造が後記実施例に示されている式 (II) の化合物である。

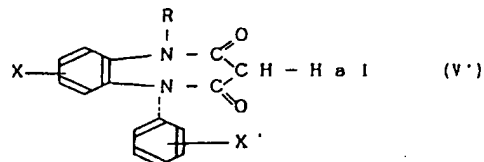
式 (II) の化合物は、式 (IV) :



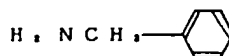
の化合物を、 $=\text{NOH}$  基を導入することのできる試剤例えばアミル、イソアミル、イソペンチル若しくは  $\alpha$ -ブチルのニトリルの作用に付して、式 (V) :



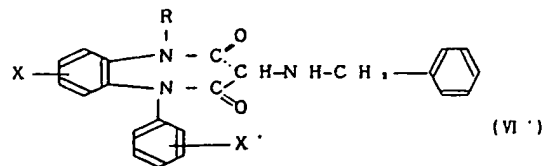
の化合物を得るようにし、これを、ラニーニッケ



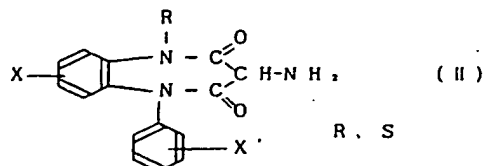
の化合物を得るようにし、これを式 :



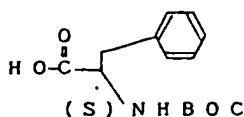
の化合物の作用に付して式 (VI') :



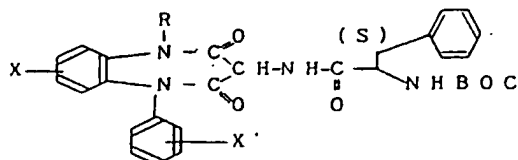
の化合物を得るようにし、これを還元剤の作用に付して式 (II) :



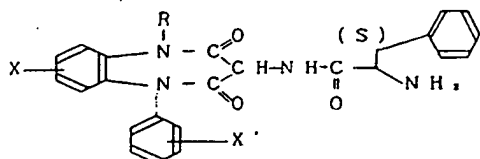
の化合物を得るようにし、これを式 :



の化合物の作用に付して式：



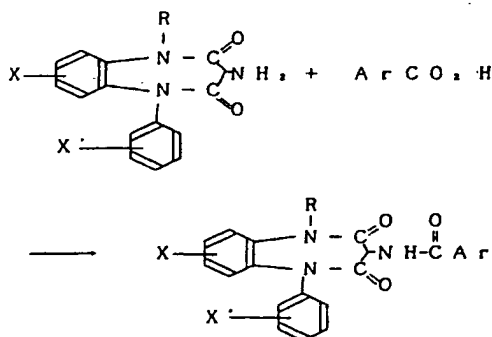
の化合物を得るようにし、これを塩酸又はトリフルオロ酢酸の如き酸の作用に付して式：



の化合物を得るようにすることを特徴とする、前記方法の変法を用いることができる。

2種のジアステレオアイソマーを分離し、得られた化合物2種をエドマン分解に付して式(II)の化合物の光学的对象体2種を得る。

例1に記載の如く次式：



に従って下記生成物を得た：

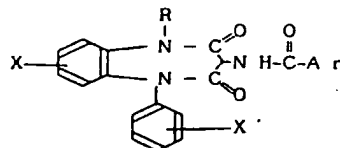
例 1：N-(7-クロロ-2,4-ジオキソ-1-メチル-5-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-3-イル)-1H-インドール-2-カルボキシアミド

3-アミノ-2,4-ジオキソ-7-クロロ-1-メチル-5-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-1,5-ベンゾジアゼピン 1.58 g (5ミリモル)、2-インドールカルボン酸 0.89 g、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノ)プロピルカルボキシイミド 1.05 g、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール 1.02 g およびジクロロメタン 50 ml よりなる混合物を周囲温度で 18 時間攪拌に付す。形成した沈澱を分離し、ジクロロメタンで洗浄する。融点約 280℃ の所期生成物 1.36 g を得る。収率 59%。

微量分析：

理論：% C 65.43 H 4.17 N 12.21 Cl 2.72

実測： 65.42 4.0 12.3 8.1



例	R	X	X'	Ar	立体化学	物理定数
2	CH <sub>3</sub>	H	H		R 又は S	融点 -170℃
3	CH <sub>3</sub>	H	H		R S	ccm rf=0.35 担体 SiO <sub>2</sub> 溶離剤 CHCl <sub>3</sub> 95 MeOH 5
4	CH <sub>3</sub>	H	H		R S	融点 = 215℃
5	CH <sub>3</sub>	H	H		R S	融点 = 234℃
6	CH <sub>3</sub>	H	H		R S	融点 > 280℃

製造 1：3-アミノ-7-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4-(3H, 5H)-ジオン

段階A: 7-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,3,4 (5H)-トリオン3-オキシム

7-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン3gを $\alpha$ -ブタノール30mlに懸濁させる。カリウム $\alpha$ -ブチラート1.12gを少しずつ加える。温度を20℃に保ちながら、 $\alpha$ -ミルニトリル2.3mlを加える。溶液を濃縮し、沈殿を形成する。16時間周囲温度に放置後、形成した沈殿を分離し(オキシムのカリウム塩)、水20mlに溶かし、酢酸で酸性にする。形成した沈殿を抽出する。有機相を水で洗浄し、乾燥し、濃縮する。所期生成物2.8gを回収する。収率=85%、融点約50℃。

微量分析:

理論: % C 58.28 H 3.67 N 12.74 Cl 10.75  
実測: 58.1 3.9 12.8 10.6

段階B: 3-アミノ-7-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン

ニッケル50gを含む懸濁物を800ミリバールの圧力で24時間水素化する。塩化メチレン1ℓを加え、触媒を分別し、溶剤を減圧下濃縮する。残留物を塩化メチレンに吸収させ、水で洗浄し、硫酸マグネシウム上で乾燥し、減圧下濃縮する。得られた生成物をメタノールから再晶出させ、エーテルで洗浄し、乾燥し、融点173℃の所期生成物76.69gを得る。

段階B: 3-プロモ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン

500ワットのランプで照射しながら、約40℃で臭素5cm<sup>3</sup>と四塩化炭素30mlを含む溶液を、段階Aで調製した生成物25gと四塩化炭素を含む溶液に一滴一滴導入する。導入し終えたときランプを消し、混合物を冷却し、塩化メチレン500cm<sup>3</sup>を加える。有機相を炭酸ナトリウム飽和溶液で洗浄し、次いで水で洗浄する。得られた生成物をシリカ上でクロマトグラフィーし、酢酸エチル-塩化メチレン7-3混合物で溶離させ

先に得られたオキシム560mg (1.7ミリモル)をラニーニッケル(約500mg)の存在下800ミリバールの圧力で16時間水素化させる。

触媒を分別し、溶剤を濃縮し、CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>20mlに吸収させる。有機相を水で洗浄し、MgSO<sub>4</sub>上で乾燥し、溶剤を排除する。所期生成物400mgを樹脂形状で回収する。  
収率=23%。

微量分析:

理論: % C 60.86 H 4.47 N 13.31 Cl 11.23  
実測: 61.12 4.5 12.9 11.2

製造2: 3-アミノ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン

段階A: 1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン

クロバザム103g、メタノール1ℓ、メタノール400cm<sup>3</sup>に溶かした水酸化カリウム23gおよび予め水とメタノールで洗浄したラニー

。このようにして、融点132℃の所期生成物10.5gを得る。

段階C: 1-メチル-5-フェニル-3-((フェニルメチル)アミノ)-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン

段階Bで得た生成物50mgとベンジルアミン2cm<sup>3</sup>との混合物を100℃で3時間加熱する。反応媒体を水に注ぐ。得られた生成物を分離し、洗浄し、無水りん酸の存在で乾燥する。所期生成物50mgを得る。

NMR CDCl<sub>3</sub>, ppm

ベンジルCH<sub>2</sub>のH 3.86 ppm

$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\ | \quad \quad | \\ -\text{C}-\text{CH}-\text{C}- \end{array}$  のH 4.17 ppm

段階D: 3-アミノ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン

先に得たメタノール100cm<sup>3</sup>中のベンジルアミン3.1g (8.4ミリモル)を10%パラジウム化チャーコール900mgの存在下1800ミリバールの圧力で加水分解する。所期量の水素が

吸収された後、触媒を分別し、メタノールを濃縮する。エタノールからの再晶出後白色粉末を得る。所期アミン1.67gを回収する。融点186℃

IRスペクトル:  $\text{NH } 3383 \sim 3321 \text{ cm}^{-1}$ 。

段階E: (S) [2 [(2,4-ジオキソ-1-メチル-5-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-3-イル)アミノ]-2-オキソ-1-(フェニルメチル)エチル]カルバミン酸1,1-ジメチルエチル

先行段階で得た生成物2.4g、塩化メチレン40ml、BOC-L-フェニルアラニン2.26g (8.5ミリモル)、ジクロロヘキシルカルボジミド1.8g (9.4ミリモル) および4-ピロリジノピリジン1.26g (8.5ミリモル) よりなる混合物を16時間攪拌する。次いで、混合物を塩酸100mlに注ぎ、有機相をデカンテーションし、水で3回洗浄する。乾燥後、溶剤を排除する。黄色フォーム5gを得る。

NMR BOC 1.38 ppm (s)

$\phi \text{CH}_2\text{-CH } 3.03$  および  $3.27 \text{ ppm}$

先行段階で得た異性体A 0.238g、塩化メチレン4cm<sup>3</sup> およびイソチオシアン酸フェニル0.125cm<sup>3</sup> を含む混合物を周囲温度で1時間攪拌する。溶剤を濃縮する。周囲温度で1時間攪拌しながら、トリフルオロ酢酸3cm<sup>3</sup> を加えた後、減圧下で濃縮する。残留物を塩化メチレン-メタノール混合物 (1/1) に吸収させて、形成したガム状物を溶かし、濃アンモニア5ml上に注ぐ。周囲温度で1時間攪拌を行なった後、塩化メチレンで抽出する。抽出物を水で洗浄し、乾燥しそして濃縮す。光学活性アミンに相当する白色樹脂状物40mgを得る。

CCM RF=0.23。酢酸エチル-トリエチルアミン97/3。

同じ方法で、先に得た異性体Bを出発物質物質として第二の対掌体を得る。

#### 薬剤形

##### 例7:錠剤

下記処方に相当する錠剤を調製した:

N-CH<sub>3</sub> 3.55 ppm (s)

段階F: [(αS) R\*, S\*] α-アミノ-N-(2,4-ジオキソ-1-メチル-5-フェニル-2,3,4,5-テトラヒドロ-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-3-イル)ベンゼンプロパンアミド  
異性体Aおよび異性体 [(αS) R\*, S\*]: 異性体B

先に得た生成物5gを酢酸エチル80cm<sup>3</sup> に溶かし、乾燥塩酸流れを5℃で20分間通す。これを周囲温度に戻した後、有機溶液を炭酸水素ナトリウム飽和溶液で洗浄し、次いで塩化ナトリウム飽和溶液で洗浄する。乾燥後、溶剤を排除する。黄色フォーム4.5gを回収し、これをシリカ上でクロマトグラフィーし、CHCl<sub>3</sub>:89、MeOH:10、AcOH:1の混合物で溶離させる。

下記のを単離する:

第一異性体A、重量=1.78g、Rf=0.52

第二異性体B、重量=1.68g、Rf=0.48

段階G: 3-アミノ-7-クロロ-1-メチル-5-フェニル-1H-1,5-ベンゾジアゼピン-2,4 (3H, 5H)-ジオン

-例3の生成物 20mg

-賦形剤 300mgの錠剤にするのに十分量

(賦形剤の詳細: ラクトース、小麦澱粉、加工澱粉、米澱粉、ステアリン酸マグネシウム、タルク)

##### 例8:カプセル

下記処方に相当するカプセルを調製する:

-例2の生成物 50mg

-賦形剤 300mgの錠剤にするのに十分量

(賦形剤の詳細: タルク、ステアリン酸マグネシウム、エーロジル)

#### 生物学的研究

##### 1) 中枢レセプタ

体重150~200gの雄ラット20匹の皮質を取出し、蔗糖中のポリトロン0.32Mと一緒にすり潰す。

遠心処理後、上澄み液を回収し、遠心作用に付す。

残留物をpH 7.4のヘブス緩衝液(ヘブス10 mM、NaCl 130 mM、MgCl $\cdot$ 6H $_2$ O 5 mM、バシトラシン250 mg/ℓ、PMSE 1 mg/ℓ) 120 mlに再懸濁させ、再度遠心作用に付す。

残留物をpH 7.4のヘブス緩衝液120 mlに吸収させ、30,000 Gで30分間遠心作用に付す。

新しく得た残留物をpH 7.4のヘブス緩衝液500 mlに吸収させ、それからホモジネート2 mlのアリコート240を得ることができる。

0.5 nMの3H CCK8および試験化合物(10,000 μM、1回の投与に又は7回投与範囲を以て)を存在させ或は参照化合物である冷CCK8(10 $^{-6}$  M)を存在させ25℃で30分間インキュベーションを行なう。

ホモジネートのアリコートを0℃に戻した後、ワットマン紙GF/B上で濾過し、この濾紙をトリスHCl 50 mM、pH 7.4緩衝液3×5 mlで洗浄する。

この結果をIC $_{50}$ すなわち固定した特定放射

0℃に戻した後、アリコートをワットマン紙GF/B上で濾過し、この濾紙を0.05%のポリエチレンイミン溶液で予備洗浄し、トリスHCl 50 mM、pH 7.4緩衝液3×5 mlで洗浄する。

この結果をIC $_{50}$ すなわち固定した特定放射能を50%にまで抑制するのに必要な濃度、IC $_{50}$ 。ナノモルで表わす。

例	末梢CCK	中枢CCK
1	20	2200
2	14	>10000

#### ラットの栄養摂取に対する作用

##### 技 法

体重250±10 gのラット5匹を1グループとする複数のグループに下記条件で試験を行なう。すなわち、フレグリー(J. Appl. Physiol., 1960, 15, 539)の論文にある餌箱付きケージに動物を個々に入れる。この餌箱には粉末状食餌からなる餌が回避されるという利点がある。日糧を

能を50%にまで抑制するのに必要な濃度で表わす。

##### 2) 末梢レセプタ

150~200 gの雄ラット3匹の脾臓を取出し、ポリtronと一緒にすり潰す(4回の磨砕、速度3、磨砕と磨砕とのあいだに10分間の間を置く)。ホモジネートをガーゼを通して濾過し、次いで30分間30,000 Gで遠心作用に付す。

得られた残留物をトリスHCl 50 mM、pH 7.4緩衝液(BSA 2 g/ℓ、バシトラシン0.1 mM、MgCl $_2$  5 mM、ジチオトレイト5 mMを含む)400容量(600 ml)に吸収させる。

ホモジネート2 mlのアリコートを0.2 nMの3H CCK8および試験化合物(10,000 μM、1回の投与に又は7回投与範囲を以て)を存在させ或は参照化合物である冷CCK8(10 $^{-6}$  M)を存在させ25℃で60分間インキュベーションを行なう。

連続5時間にわたって取るようラットを慣らし、また欲しいだけの飲料水がガラス製供給瓶で提供される。

食餌の摂取量は餌箱の重量によって個々に調べられる。消費は化合物10 mg/kgを腹腔内投与後5時間のあいだ1時間毎に調べ、その量を1時間につき体重100 g当りのg数で表わす。

平均値を、ダネットテストにより対照動物で得た値と比較する。

##### 結 果

腹腔内ルート1回につき10 mg/kgの用量において、例1の生成物は無食欲化作用を示す。

それは、動物の食餌消費を対照動物に関して50%より多く低下させる。

##### テンジクネズミの単離小腸に対する作用

##### 方 法

カルボジェーヌで曝気し且つ37℃に保ったクレブス溶液中1 Gの緊張に置かれた、雄テンジクネズミからの小腸部分に対しテストを行なう。

収縮を、ポリグラフに接続したマイクロダイナモメーターにより記録する。

小腸は30分間静置し、次いでその浴にCCK8を $1.10^{-8}$ Mの濃度で加えた後、試験化合物を浴に加えて、器官と1分間接触させ、次いでCCK8 ( $1.10^{-8}$ M)を浴に加える。試験化合物との接触前と接触後のCCK8によって引き起こされる収縮を比較することにより見込まれる拮抗作用が表わされる。

例2の生成物は $10^{-8}$ Mの用量で有意な拮抗作用を示す。

代理人の氏名

倉内基弘



同

風間弘志



第1頁の続き

⑤Int. Cl.<sup>5</sup>

A 61 K 31/55

識別記号

AED

庁内整理番号

⑦発明者

ダニエル・アンペール

フランス国フオントネ・スー・ボワ、リュ・ガストン・シヤルル、15